



Workshop "INQUINAMENTO DA MICROPLASTICHE NELLE ACQUE: STATO ATTUALE E STRATEGIE FUTURE. 10 Maggio 2023







Microplastiche nei laghi italiani: biodiversità e struttura della plastisfera



Francesca Di Pippo¹, Caterina Levantesi¹, Simona Crognale¹, Valerio Bocci¹, Stefano Amalfitano¹, Simona Rossetti¹, Andrea Martinelli²



¹Istituto di Ricerca Sulle Acque, CNR-IRSA, Consiglio Nazionale delle Ricerche

²Sapienza Università Di Roma, Dipartimento di Chimica

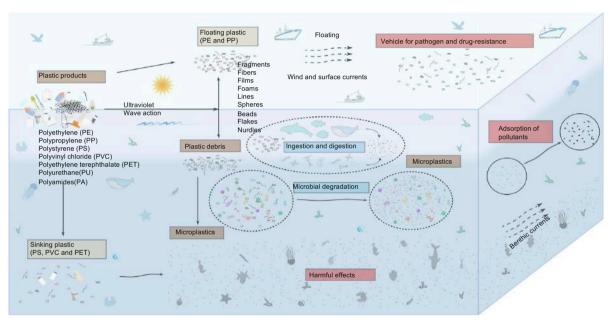
francesca.dipippo@irsa.cnr.it

Laboratorio di Microbiologia Ambientale e Biologia Molecolare

https://www.irsa.cnr.it

Plastiche e Microplastiche (MPs) contaminanti emergenti in ecosistemi acquatici

Possibile destino delle plastiche in oceano



Ruolo MPs come veicolo di dispersione di comunità microbiche

(Modificato da Du et al. 2022)





MPs colonizzate da microrganismi planctonici



Biofilm

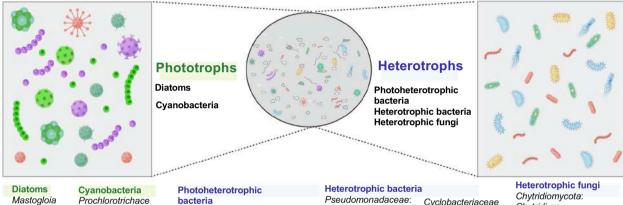


adesi alle plastiche

Studi sulla plastisfera principalmente in ecosistemi marini



Plastisfera



Mastogloia Navicula Nitzschia Cyclotella Pleurosigm

Sellaphora

Amphora

. Nitzschia

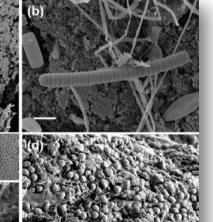
Phormidium Rivulariaceae: Rivularia

bacteria

Erythrobacteraceae: Erythrobacter Rhodobacteraceae: Roseobacter

Pseudomonas Azotobacter Bacillaceae: Bacillus Nocardiaceae: Rhodococcus Pirellulaceae Phycisphaerales Cyclobacteriaceae Acetobacteraceae: Roseococcus Rhodobacteraceae

Flavobacteriaceae Burkholderiales Vibrionaceae Mycobacteriacea Hyphomonadaceae Chytridium Cryptomycota Ascomycota: Saccharomyces Candida Kazachstania



(Zettler et al. 2013)

(Modificato da Du et al. 2022)

Elevata diversità strutturale e funzionale





- Composizione in taxa, diversità e struttura differente rispetto alle comunità planctoniche
- Diversità e struttura della plastisfera influenzata da condizioni ambientali
- Effetto tipo di polimero su struttura e bioversità della plastisfera ancora dibattuto
- Dinamiche di sviluppo non ancora chiare
- Possibile ruolo della plastisfera nella biodegradazione delle plastiche

NUOVA NICCHIA EMERGENTE IN AMBIENTE PELAGICO PER ORGANISMI BENTONICI

Ruolo come possibile veicolo dispersione microrganismi tossici e/o patogeni e geni per la resitenza agli antibiotici (ARGs) nell'ambiente





Limitati dati plastisfera in ambiente di acqua dolce

SCOPO

- Valutazione diversità e struttura della comunità batterica ed eucariotica, possibili fattori che inluenzano pattern di colonizzazione in ecosistemi lacustri
- ➤ Valutazione ruolo della plastisfera come possibile vettore di dispersione di microrganismi tossici e/o patogeni e geni per la resitenza agli antibiotici (ARGs) nell'ambiente

IPOTESI

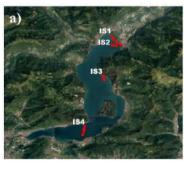
MPs come substrato di crescita galleggiante che fornisce un habitat pelagico a specie con habitus bentonico con possibili implicazioni ecologiche e sulla salute umana





XIV Edizione Campagna Goletta dei Laghi























(Di Pippo et al. 2020, Water Research)

Iseo (IS), Como (CO), Maggiore (MA), Garda (GA), Trasimeno (TR), Bracciano (BRA), Paola (SA)





Fluorescence In Situ Hybridisation (FISH)

Microscopia Confocale a Scansione Laser (CLSM)

Sequenziamento high throughput geni 16S rRNA and 18S rRNA

ANALISI PLASTISFERA

qPCR geni Intl1 and 16S rRNA

Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)-PCR per presenza di Salmonella spp, Legionella spp, Legionella pneumophila and Pseudomonas aeruginosa

ANALISI MPs

Fourier Transform Infrared spectroscopy (FT-IR)

Carbonyl Index (CI)

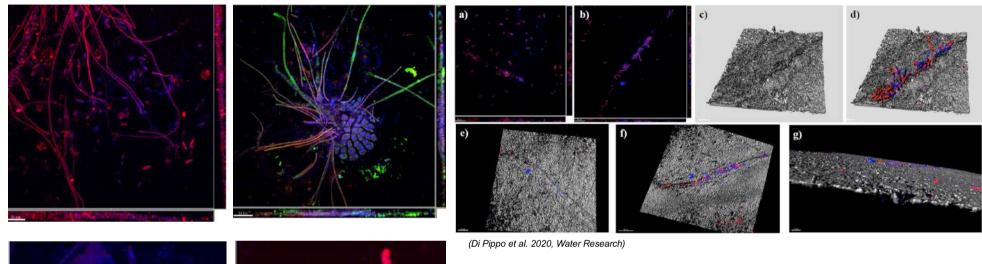
Scanning Electron Microscopy (SEM)

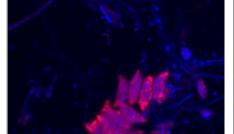
Sequenziamento high throughput geni 16S rRNA and 18S rRNA su campioni di acqua

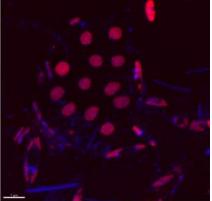










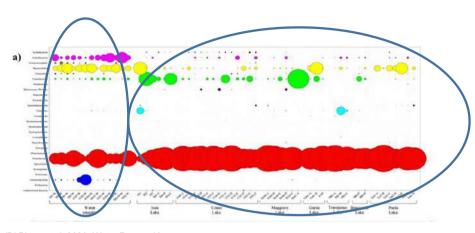


Struttura multistratificata

Microcolonie di batteri e/o cianobatteri, diatomee, alghe verdi strettamente associate







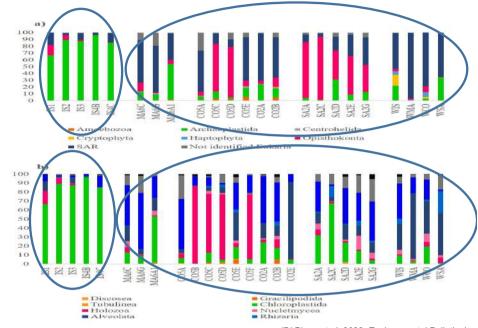
(Di Pippo et al. 2020, Water Research)

Proteobacteria (18.1–94.7% reads totali)

Bacteroldetes (4.7–43.9%)

Actinobacteria (5.5-39.0)

Cyanobacteria (0.5–61.20%)



(Di Pippo et al. 2022, Environmental Pollution)

Composizione simile a quella di biofilm su substrati naturali

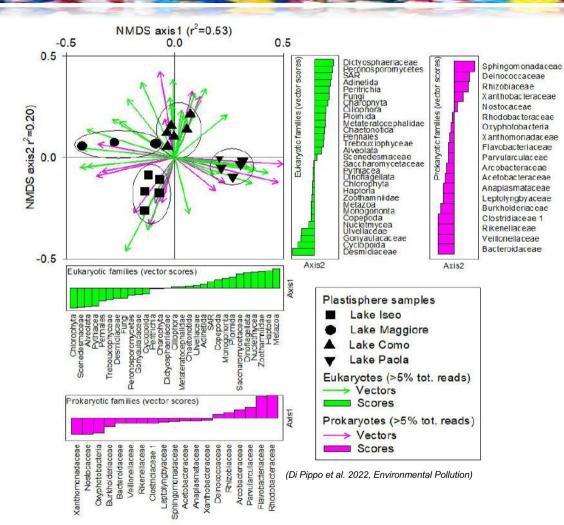
SAR supregruppo (Alveolata and Stramenopiles), Holozoa, inclusi Metazoa, Fungi and Chloroplastidia

Composizione batterica ed eucariotica della plastisfera significativamente diversa da quella planctonica

Ruolo selettivo MPs







- Composizione della plastisfera significativamente diversa tra laghi
- No differenze significative della composizione tra i polimeri



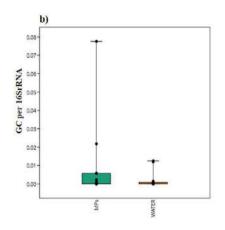


- Taxa HAB (Harmful Algal Bloom)
 - Cianobatteri produttori di cianotossine: Pseudoanabaena spp., Leptolyngbya spp., Calothrix spp., Nostoc spp. and Phormidium spp.
 - Genere planctonico *Gonyaulax* (Gonyaulacales, Dinophyceae)

(MPs come vettore di cisti)

| | Salmonella spp. | Legionella spp. | Legionella pneumophila | Pseudomonas aeruginosa |
|----------|--------------------|--------------------|------------------------|------------------------|
| ISEO | ND | ND | ND | ND |
| сомо | ND | 7.6% | ND | 15.4% |
| MAGGIORE | ND | ND | ND | 11.1% |
| PAOLA | 28.5% | 14.3% | ND | ND |

Presenza di patogeni (Legionella spp., Pseudomonas aeruginosa)



- intl1 presente in molti dei campioni analizzati con abbondanze variabili tra i laghi
- Valori intl1 maggiori nelle MPs che nei campioni di acqua

Indicazioni di possibile rischio legato alla plastisfera in ambiente lacustre





Generi Flavobacterium, Rhodococcus e Ideonella in molte comunità di biofilm

OUPUT

Primi/nuovi dati su diversità e struttura della plastisfera in ambienti lacustri

MPs come substrato di crescita galleggiante che fornisce un habitat pelagico a specie con habitus bentonico

Questioni aperte

Effetto tipo polimero sulla composizione e diversità della plastisfera

Dinamiche sviluppo della plastisfera nel tempo

Relazione tra dinamiche sviluppo/composizione in specie e potenziale biodegradativo della plastisfera

Effettivo rischio legato alla presenza della plastisfera

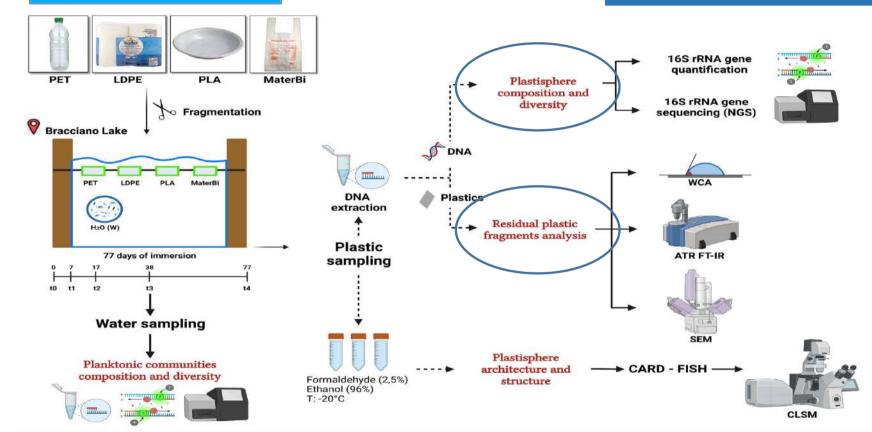




Esperimenti On site

WORK IN PROGRESS.....





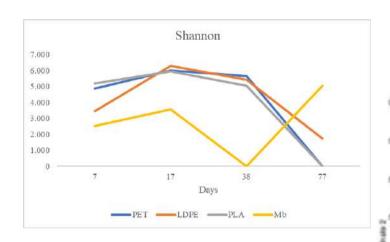


(Di Pippo et al. submitted)





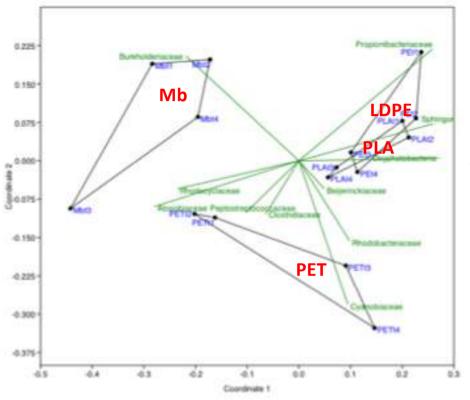
Effetto del polimero sulla composizione in taxa



Trend e valori di diversità simili indipendentemente dal polimero

Consistenti con dati biofilm naturali in ambiente acquatico

NMDS - ASVs dominanti (>10% tot. reads)

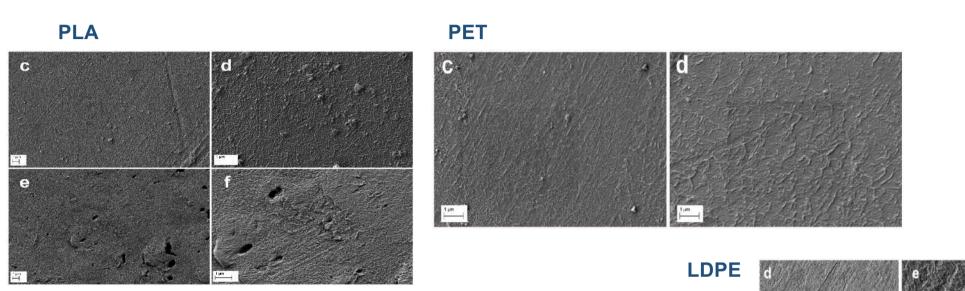


PLA, PET e LDPE dominanza Actinobacteria (fino al 79.2%) durante le fasi iniziali di sviluppo (t1 and t2) e abbondanza di batteri pigmentati fotosintetici negli stadi successivi (t3 and t4).

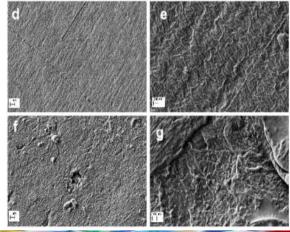








No modifiche polimero imputabili a fattori biotici







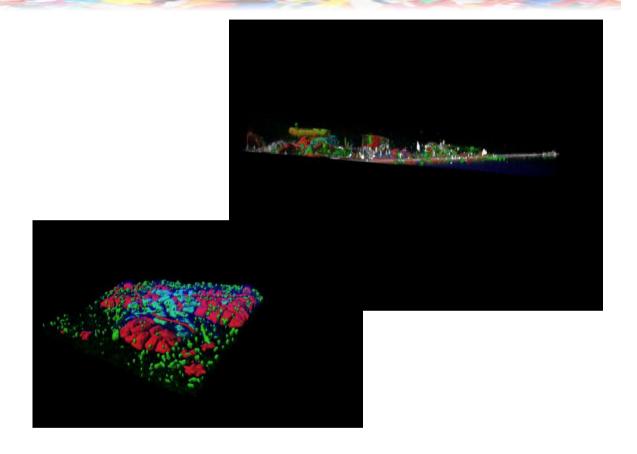
IPOTESI

PLA, LDPE e PET come superficie di adesione e sviluppo dei biofilm

No biodegradazione PLA, LDPE e PET

Azione protettiva della plastisfera

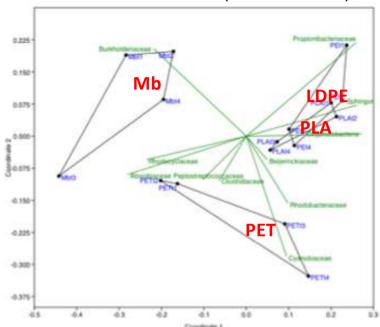
- Film
- Matrice Esopolimerica



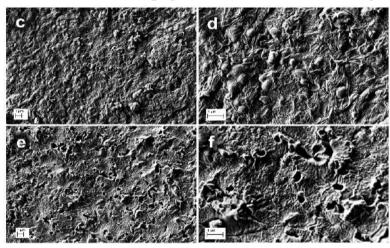




NMDS – ASVs dominanti (>10% tot. reads)



Composizione del MaterBi [®] guidata da Gammaproteobacteria, in particolare membri della famiglia Burkholderiaceae (fino al 50.5 %) Assenza di batteri pigmentati fotosintetici negli stadi successivi



Comunità in grado di biodegradare l'amido ma non la matrice del polimero in cui l'amido è immerso

Composizione in taxa della plastisfera è influenzata dal polimero su cui aderisce e riflette anche la capacità dei microrganismi di degradare o meno il substrato di adesione

Riflessione sul destino delle plastiche biodegradabili/compostabili se immesse nell'ambiente acquatico





